

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. F. Verzar

Hemmung der Lymphocytopenie und Thymusatrophie nach Glucosefütterung mittels Adenin

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von
Ruth Uebelin
von Basel

Basel 1953

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. F. Verzá

Hemmung der Lymphocytopenie und Thymusatrophie nach Glucosefütterung mittels Adenin

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von
Ruth Uebelin
von Basel

Basel 1953

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Herrn Professor F. Verzár.

Tag der Promotion: 10. Juli 1953.



Sonderdruck aus
ACTA ENDOCRINOLOGICA
12, 271-278, 1953

Herrn Professor Verzár möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aussprechen für die Zuweisung der Arbeit und ihre Förderung durch seine wertvollen Ratschläge.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Physiologischen Institut
der Universität Basel

HEMMUNG DER LYMPHOCYTOPENIE UND THYMUSATROPHIE NACH GLUCOSE- FÜTTERUNG MITTELS ADENIN

Von

Ruth Uebelin

Nach Glukosefütterung tritt bei der Ratte eine Lymphocytopenie ein (*Elmadjian, Freeman & Pincus*, 1945, 1946, und *Sass-Kortsak & Vogt*, 1948). Man erklärt sich diese seit *Dougherty & White* (1944) als die Folge einer Ausschüttung von Nebennierenrindenhormon. Cortison oder ACTH haben ebenfalls diese Wirkung und führen auch zu einer Atrophie von Thymus und Lymphdrüsen. Man nimmt deshalb an, dass die Lymphocytopenie nach Glukosefütterung auch der Ausdruck einer Corticosteroid-Bildung ist.

Diese Wirkung von Glukose auf die Zahl der Lymphocyten und auf die lymphocytenbildenden Organe verdient ein besonderes Interesse, weil es sich dabei um die Wirkung einer Nahrungssubstanz handelt. In früheren Versuchen (*Sass-Kortsak & Vogt*, 1948) war erwachsenen Ratten von rund 200 g Körpergewicht 2 ml 50 % Glukose (= 1 g) mit der Magensonde eingegeben worden. Das entspricht etwa $\frac{1}{5}$ des täglichen kalorischen Bedarfes dieser Tiere, welcher zu 20 Cal. angegeben wird. 2–4 Stunden darnach tritt die starke Senkung der Lymphocyten ein, welche nahezu 24 Stunden dauert. Es handelt sich dabei nicht um die Folge eines »unspezifischen stress« sondern um die Wirkung einer körpereigenen Substanz in nicht unphysiologischen Mengen.

Das berechtigt zur Frage, was die Bedeutung dieser Abnahme der Lymphocyten sei? Es wurde deshalb die Arbeitshypothese aufgestellt, dass die Lymphocyten eine Substanz liefern, welche im intermediären Stoffwechsel benötigt wird.

Auf Anregung von Prof. *F. Verzár* soll deshalb im Folgenden untersucht werden, ob die Abnahme der Lymphocyten nach Glukosefütterung ersetzt werden kann, wenn man einen Bestandteil derselben den Tieren eingibt. Es sollte möglich sein, die Lymphocytopenie mit einer solchen Substanz zu hemmen.

Unter dem Einfluss von Corticoiden findet bekanntlich auch eine Atrophie des Thymus und der Lymphdrüsen statt. Auch diese Erscheinung könnte so erklärt werden, dass die lymphatischen Organe grosse Mengen Lymphocyten abgeben, welche dann aufgelöst werden. Dabei würden Substanzen abgegeben, welche im intermediären Stoffwechsel gebraucht werden und in grossen Mengen in den lymphatischen Organen neu gebildet werden. Nach dieser Auffassung wären also Lymphocyten Transporteure von spezifischen Substanzen, und Thymus und Lymphdrüsen sind deren Produzenten. Die Einschmelzung der letzteren als Folge von Corticosteroid-Wirkung ist nicht als toxischer Effekt zu bewerten, sondern als Ausdruck dafür, dass durch die Corticosteroide Reaktionen angeregt werden, welche ein Material brauchen, das von den Lymphocyten geliefert wird.

Berechnet man die Menge der verbrauchten Lymphocyten, so erhält man die folgenden Zahlen: Angenommen eine Ratte von 200 g hat 10 ml Blut mit 50 % Zellen, wovon 0,25 % Lymphocyten (8 Millionen Erythrocyten, 20,000 Lymphocyten pro mm^3), dann ist das Gesamtgewicht aller Lymphocyten rund 25 mg. Der Verbrauch sämtlicher Lymphocyten würde für den Stoffwechsel von 1000 mg Glukose 25 mg Lymphocytenmaterial liefern. Werden allerdings von den lymphatischen Organen Lymphocyten nachgeliefert, dann kann diese Menge auch wesentlich grösser sein.

Lymphocyten enthalten hauptsächlich Nucleotide (*Hammarsten*, 1926). Deshalb lag der Gedanke nahe, dass die von den Lymphocyten gelieferte Substanz unter diesen zu suchen sei. Bei Prozessen, welche mit dem Stoffwechsel der Glukose zusammenhängen, scheint es möglich zu sein, dass die bei der Auflösung der Lymphocyten gelieferten Nucleotide zum Wiederaufbau von Adenosintriphosphorsäure benötigt werden. Diese wirkt als Donator von Phosphorsäure bei Phosphorylierungsvorgängen im Kohlehydratstoffwechsel.

Wir dachten deshalb daran, dass die Lymphocyten Adenin oder eine Adenin-Verbindung liefern. Von diesem Gedanken ausgehend, wurde versucht, ob mit der Glukose gleichzeitig verabreichtes Adenin die Lymphocyten vertreten könnte, so dass auf diese Weise die Lymphocytopenie verhindert würde.

Nach mannigfaltigen Vorversuchen mit anderen Substanzen wurden die folgenden Versuche gemacht:

Wir untersuchten bei Ratten 1. die Wirkung von Glukose, 2. die Wirkung von Adenin und 3. die Wirkung von beiden zusammen auf die Lymphocytenzahl. Ferner wurden dieselben Wirkungen auf die Atrophie des Thymus untersucht.

METHODIK

Es wurden männliche Ratten von ca. 180 g benützt. Die Tiere erhielten die Glukose und das Adenin mit Magensonde. Adenin wurde gelegentlich i. p. in-

jiziert. Alle Eingaben erfolgten morgens, 18 Stunden nach der letzten Fütterung. Die erste Zählung der weissen Blutkörperchen wurde um 8 Uhr morgens gemacht. Um 9 Uhr wurde die Substanz eingegeben und dann stündlich Blutuntersuchungen ausgeführt. Für die Blutkörperchenzählung bringen wir das Tier in einen rohrförmigen Drahtkäfig, aus welchem der Schwanz heraushängt, der dann mit einer scharfen Schere angeschnitten wird. Die Tiere müssen sehr sorgfältig behandelt werden, damit sie sich nicht aufregen. Eine Adrenalinausschüttung und dadurch bedingte ACTH-Wirkung auf die Nebennierenrinde könnte eine ähnliche Reizwirkung haben. Wir trainierten deshalb die Tiere mehrfach vor dem eigentlichen Versuch, und sie zeigten dann tatsächlich keine Unruhe mehr.

Die Zahl der Leukocyten wurde mit der Kólbchenmethode von *Bürker* bestimmt. Im Strichpräparat wurde ein qualitatives Blutbild mit der May-Grünwald-Giemsa-Färbung gemacht und die Prozentzahl der Lymphocyten bestimmt.

VERSUCHE

I. Versuchsreihe.

In der I. Versuchsreihe benützten wir für jede Bestimmung ein besonderes Tier.

- a) 8 Tiere erhielten 1 g Glukose (in 2 ml Wasser) per os.
- b) 4 Tiere erhielten 5 mg Adenin (in 1 ml Wasser) per os.
- c) 12 Tiere erhielten beides zusammen (2 ml Wasser) und wurden bis zu 3 Stunden beobachtet, und 9 Tiere erhielten ebenfalls beides zusammen und wurden bis zu 5 Stunden beobachtet.

Abb. 1 zeigt den gemittelten Verlauf der Lymphocytenzahl von jeder dieser Gruppen. Nach der Eingabe von 1 g Glukose ist schon nach einer Stunde die Lymphocytenzahl auf 37 % und nach 3 Stunden auf 24 % gefallen und bleibt

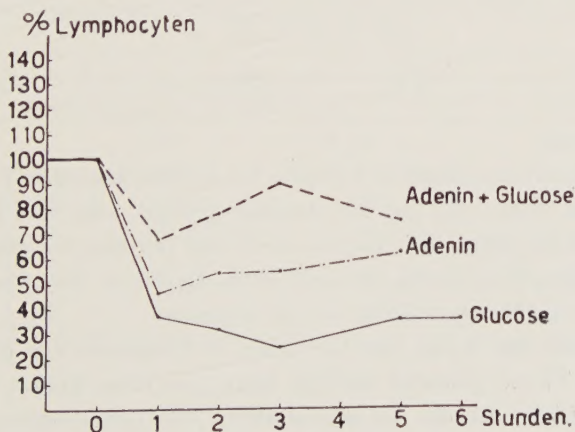


Fig. 1.

während 6 Stunden ebenso niedrig. Wir überzeugten uns, dass nach 24 Stunden der Ausgangswert wieder erreicht war, doch haben wir den zeitlichen Verlauf nicht weiter verfolgt.

5 mg Adenin gibt ebenfalls eine Lymphocytopenie, die aber in der ersten Stunde nur 46 %, dann 55 % und nach 5 Stunden 61 % des Ausgangswertes beträgt.

Ganz anders ist der Verlauf, wenn man die beiden Substanzen zusammen eingibt. Die gemittelte Kurve zeigt, dass der starke Abfall durch Glukose nun weitgehend gehemmt wird. In der ersten Stunde ist eine geringe Senkung auf 64 % zu sehen. Bereits von der zweiten Stunde an steigen die Werte auf 77 % und dann weiter auf 90 %. Dabei ist zu bemerken, dass eine Abnahme auf 80 % als physiologische Schwankungsbreite betrachtet wird.

In der Tabelle 1 sind die gefundenen Mittelwerte mit dem mittleren Fehler zusammengestellt und die Signifikanz der Glukoseversuche mit der Glukose + Adenin-Reihe verglichen. Die Berechnung der t- und p-Werte nach Fisher und Burn zeigt, dass die Unterschiede signifikant sind.

Tabelle 1.
I. Versuchsreihe.

Versuch	I.	II.	III.		
Stunden nach Eingabe	1 g Glucose	1 g Glucose mit 5 mg Adenin	5 mg Adenin	t I—II	p I—II
	% der Anfangs- Lymphocytenzahl				
0.	100	100	100	—	—
1.	37.7 ± 3.6	64 ± 6.8	46.1 ± 6.1	3.41	< 0.01
2.	31.2 ± 5.6	68.8 ± 6.3	54.9 ± 10.9	4.54	< 0.01
3.	24.1 ± 3.6	77.2 ± 8.4	54.7 ± 7	5.8	< 0.01
4.	35.8 ± 11.9	—	—	—	—
5.	35.4 ± 3.8	82 ± 8.6	61 ± 0.0	2.73	< 0.02
Zahl der Versuche	8	12 (1–3h); 9 (5h).	4		

II. Versuchsreihe.

Nachdem die vorangehenden Versuche an 33 verschiedenen Tieren gemacht worden waren, haben wir uns die Aufgabe gestellt, alle drei Bestimmungen, d. h. mit Glukose allein, mit Adenin allein und mit dem Gemisch Glukose + Adenin, an denselben Tieren durchzuführen. In diesen Versuchen wurde eine doppelt so grosse Menge Adenin, 10 mg, gegeben.

Nachdem alle drei Arten von Versuchen in Abständen von etwa 2 Wochen an denselben Tieren gemacht wurden, kann man diese Reihen besser miteinander vergleichen als die vorangehenden. Alle Lymphocytenwerte wurden während 6 Stunden nach der Eingabe verfolgt.

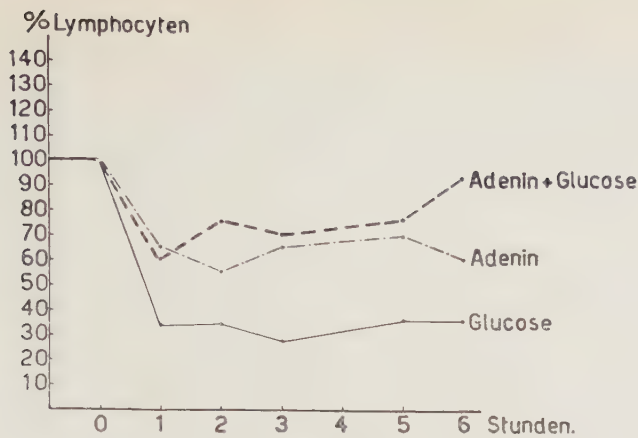


Fig. 2.

Abb. 2 zeigt, dass das Resultat der vorigen Versuchsreihe bestätigt und weitgehend gesichert wird. Die Lymphocytenzahl fällt nach Glukose auf rund 30 % und bleibt etwa gleich während 6 Stunden.

Adenin allein gibt auch hier eine geringe Lymphopenie. Die Hemmungswirkung auf den Glukoseeffekt wird damit nur umsomehr bewiesen.

Nach Glukose mit Adenin ist die Lymphopenie geringer und nach 6 Stunden ganz verschwunden. Nach Glukose allein war sie noch nach 6 Stunden 35 % des Ausgangswertes.

In Tabelle 2 sind die Werte der Glukose- und der Glukose-Adenin-Reihe auf t- und p-Werte berechnet. Mit einer Ausnahme ist $p < 0.01$, also signifikant.

Tabelle 2.
II. Versuchsreihe.

Versuch	I.	II.	III.		
Stunden nach Eingabe	1 g Glucose	1 g Glucose mit Adenin 5 mg Adenin	5 mg Adenin	t 1—II	t 1—III
	% ₁₀ Lymphocyten des Anfangswertes				
0.	100	100	100	—	—
1.	33 ± 3.3	60.9 ± 4.5	65.9 ± 15.8	5.1	< 0.01
2.	33.6 ± 7.3	75.8 ± 7.82	56.7 ± 9.1	3.9	< 0.01
3.	28.3 ± 4.5	70.4 ± 3.5	65.7 ± 8.7	6.5	< 0.01
4.	—	—	—	—	—
5.	35.8 ± 14.7	75.9 ± 13.9	70 ± 7.2	2.04	< 0.1
6.	35.4 ± 4.9	94.8 ± 12.8	60.5 ± 8.2	4.3	< 0.01
Zahl der Versuche an 5 gleichen Tieren	5	5	5		

III. Versuchsreihe.

Cortison und ACTH bewirken bekanntlich Thymusatrophie. Falls nach Glukosefütterung eine Corticoidausschüttung stattfindet, so ist eine Thymusatrophie zu erwarten. In weiteren Versuchen wurde deshalb geprüft, ob durch längerdauernde Glukosefütterung eine Atrophie des Thymus erreicht werden kann.

Zu diesen Versuchen haben wir drei Gruppen von je 10 (9) Ratten von etwa 70 g Körpergewicht verwendet und während 14 Tagen folgenderweise behandelt.

Gruppe I wurde auf der normalen Zuchtdiät gehalten. Gruppe II erhielt täglich morgens 8 Uhr mit der Magensonde 2 ml 50 % Glukose. Gruppe III bekam täglich ebensoviel Glukose und ausserdem 20 mg Adenin in der Glukose-lösung aufgeschwemmt. Am 15. Tag morgens erhielt diese Gruppe nochmals 40 mg Adenin. 4 Stunden später wurden alle Tiere der drei Gruppen mit Leuchtgas getötet und die Organe gewogen.

Tabelle 3 zeigt die Resultate. Der Thymus nimmt bei den mit Glukose gefütterten Tieren gegenüber den normal gefütterten in signifikanter Weise an Gewicht ab. Korreliert man das Thymusgewicht mit dem Körpergewicht am Ende des Versuches, so erhält man für den Quotienten Thymus: Körpergewicht $\times 10^3$; bei Tieren auf Normalfutter den Wert 3.67, bei Tieren mit Glukose 2.39, und wenn mit Glukose zusammen auch Adenin gegeben wurde, 3.27. Für die Abnahme des Thymus nach Glukosefütterung beträgt $p < 0.01$ und für das Fehlen dieser Abnahme, wenn Adenin gefüttert wird, ist $p < 0.02$.

Wir finden demnach, dass die Glukosefütterung zu einer Thymusatrophie führt, und dass diese durch Adenin gehemmt wird.

Tabelle 3.
III. Versuchsreihe.

Diät	Gemischte Diät	1 g Glucose	1 g Glucose mit 20 mg Adenin
Gruppe	I.	II.	III.
Körpergewicht nach			
nach 15 Tagen g.	88.1 $\pm$ 5.5	96.0 $\pm$ 4.1	79.1 $\pm$ 4.6
Thymus mg	329.9 $\pm$ 24.4	231.0 $\pm$ 28.7	261.0 $\pm$ 23.8
Zahl der Tiere	10	9	10
Quotient:			
Thymus/Körpergewicht $\times 10^3$	3.67 $\pm$ 0.20	2.39 $\pm$ 0.28	3.27 $\pm$ 0.21

Thymus/Körpergewicht: t und p Werte.

^t I - II	3.76	$p < 0.01$
^t I - III	1.46	$p < 0.2$
^t II - III	2.58	$p < 0.02$

Die Versuche gingen von der Arbeitshypothese aus, dass die Auflösung der Lymphocyten und der lymphoiden Organe die Bedeutung haben könnte, dass auf diese Weise Material für eine bestimmte Reaktion im intermediären Stoffwechsel geliefert wird. Diese Hypothese scheint durch die vorangehenden Versuche zwar noch nicht bewiesen, aber sie hat zur Auffindung einer Lymphopenie hemmenden Substanz, dem Adenin, geführt. Es gelang mit Adenin die nach Glukose-Fütterung auftretende Lymphopenie weitgehend zu hemmen. Eine ähnliche antagonistische Wirkung wurde auch auf den Thymus festgestellt. Nach Glukosefütterung atrophiert dieser, und auch diese Atrophie wird durch Adenin-Gaben vermindert. Das steht in Uebereinstimmung mit den aus den Lymphocyten-Zählungen gezogenen Folgerungen, dass als Reaktion auf die Glukose-Fütterung, Adrenocorticosteroide ausgeschüttet werden. Diese verursachen die Einschmelzung der Lymphocyten im peripheren Blut, ebenso wie im Thymus. Ist gleichzeitig Adenin vorhanden, dann wird die Einschmelzung der Lymphocyten überflüssig. Es kann diese vertreten. Adenin hemmt deshalb diesen Prozess im peripheren Blut, ebenso wie im Thymus, und wahrscheinlich auch in den Lymphdrüsen, die sich nach *Dougherty & White* (1944) gleich wie der Thymus zu verhalten scheinen. Das spricht für die Richtigkeit der Arbeitshypothese, dass der Lymphocytenzerfall die Rolle hat, Adenin für intermediäre Stoffwechselprozesse zur Verfügung zu stellen, und dass die lymphoiden Organe dieses durch Abgabe von Lymphocyten nachliefern. Nach einer persönlichen Mitteilung von *O. A. Trowell* (J. of Physiol. in press) fand dieser, dass Adenin den Zerfall von Lymphocyten durch Cortison in vitro hemmt.

In diesem Zusammenhang sei auf einen Befund von *Umbreit und Umbreit & Tonházy* (1951) hingewiesen, der uns nachträglich bekannt wurde. Es wurde gefunden, dass die »adrenalektomierten Tiere einen vermehrten Bedarf für Adenylsäuren haben«, um die maximale Geschwindigkeit von bestimmten Oxydationen, z. B. von α -Ketoglutarat, aufrecht zu erhalten.

Ferner ist darauf hinzuweisen, dass nach *Hayano und Dorfman* (1950) d-Aminooxydasen durch DOCA stark gehemmt werden. Diese haben eine prosthetische Gruppe, die ein *Iso-alloxazin-adenin-dinucleotid* ist. Allerdings bestehen weitgehende Unterschiede in der Wirkung an Niere und Leber. Cortison fördert die Oxydation von Prolin in der Niere, aber nicht in der Leber. Dagegen fördert es die Oxydation von d-Aminosäuren in der Leber, nicht aber in der Niere.

In diesem Zusammenhang scheint unser Befund, der auf einem vollkommen verschiedenen Weg gefunden worden ist, eine besondere Bedeutung zu bekommen.

ZUSAMMENFASSUNG

1) Bei der Ratte macht 1 g Glukose per os eine starke Lymphopenie, welche auf die Ausschüttung von Nebennierenrindenhormon zurückgeführt wird.

2) Gleichzeitige Eingaben von 5 oder 10 mg Adenin unterdrückt die Lymphopenie weitgehend.

3) Adenin allein macht auch geringe Lymphopenie. Es handelt sich demnach nicht um eine antagonistische Wirkung.

4) Dieser Effekt wird so erklärt, dass die Lymphopenie dazu dient, um Adenin, oder Adenin-artige Substanzen, für den intermediären Kohlenhydratstoffwechsel zu liefern und deshalb mit Adenin unterdrückt, bzw. vertreten werden kann.

5) In ähnlicher Weise unterdrückt Adenin auch die nach 14-tägiger Glukose-Belastung auftretende Thymusatrophie, was im gleichen Sinne gedeutet werden kann.

SUMMARY

1) If 1 gm. glucose is given with stomach tube to trained rats, a decrease of lymphocytes is observed, which is maximal after 2-4 hours.

2) If 5 or 10 mg. Adenin are given together with the glucose, the lymphocytopenia is greatly decreased or abolished.

3) Adenin alone has also a lymphocytopenic activity, thus the observed inhibition of the glucose effect is not the result of a direct antagonism.

4) Fig. 1 and Table 1 show experiments in which a different animal was used for each experiment, and Fig. 2 and Table 2 refer to experiments in which the three types of experiments were done on the same animals in two weeks' intervals.

5) Atrophy of the thymus after 15 days glucose treatment can be inhibited with daily doses of Adenin (Table 3).

6) It is supposed that the lymphocytes - and the lymphatic tissue in general - produce a substance, which is needed for certain metabolic processes, which are stimulated by the adrenal cortical hormones.

LITERATUR

- Dougherty, T. F. & White, A.*: Endocrinology 35, 1, 1944.
Elmadjian, F., Freeman, H. & Pincus, G.: Endocrinology 37, 47, 1945.
Elmadjian, F., Freeman, H. & Pincus, G.: Endocrinology 39, 293, 1946.
Hayano, M. & Dorfman, R.: Ann. New York Acad. Sciences 54, 608, 1950.
Hammarsten, O.: Lehrbuch der Physiol. Chemie 1926.
Sass-Kortsak, A. & Vogt, A.: Experientia 4, 404, 1948.
Umbreit, W. W.: Ann. New York Acad. Sciences 54, 567, 1951.
Umbreit, W. W. & Tonhazy, N. E.: J. Biol. Chem. 191, 257, 1951.

